

# Nexera Bio 液相色谱系统用于阿达木单抗的聚集体分析

LC-187

**摘要：** 本文使用尺寸排阻色谱（SEC）进行单克隆抗体（mAb）聚集体分析，采用色谱柱为 Shim-pack Bio Diol-200，流动相为 150 mmol/L 磷酸钠缓冲液和 150 mmol/L 氯化钠溶液的流动相条件进行分析，二聚体和单体分离度为 2.232，色谱分离良好。重复性结果显示，二聚体和单体的保留时间和峰面积的 RSD% 均小于 0.5%，重复性良好。实验数据表明 Nexera Bio 液相色谱系统和 Shim-pack Bio SEC 色谱柱在 SEC 分析中，可以提供良好色谱峰型，带来快速有效分离，保证稳定可靠分析。

**关键词：** Nexera Bio HPLC Shim-pack Bio mAb 聚集体 SEC

单克隆抗体（mAb）是一类单一 B 细胞克隆产生的高度均一、仅针对某一特定抗原表位的抗体。一般通过杂交瘤技术或基因工程技术构建细胞株，经过细胞培养代谢、纯化等工艺步骤制备产生。

mAb 在生产、储存、运输过程中都会伴随聚集体的形成，这种聚集体的形成多由单抗氨基酸序列的错误折叠、不完全折叠造成“hot spots”的暴露，“hot spots”一般为氨基酸序列，具有高度疏水性、低电荷性且易形成  $\beta$ - 折叠等特性，接着以“hot spots”为

核心将不同单体聚集在一起，进而形成聚集体。单抗的聚集体会影响其作为治疗药物的安全性和有效性，聚集体不仅会降低药物的效果，还会引起机体的免疫反应，具有潜在的副作用。故在 mAb 研发、生产过程中需对其聚集体进行严格监控。

尺寸排阻色谱（SEC）是 mAb 聚集体分析常用的一种分析方法。此应用利用 Nexera Bio 生物惰性液相色谱系统和 Shim-pack Bio Diol-200 生物惰性色谱柱进行 SEC 测试，用于阿达木单抗的聚集体分析。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 Nexera Bio 生物惰性液相色谱系统。具体配置为：DGU-20A3 在线脱气机，LC-20ADXR Bio 输液泵，SIL-20A XR Bio 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LabSolutions Ver. 5.91 色谱工作站。



图 1 Nexera Bio 生物惰性液相色谱系统硬件示意图



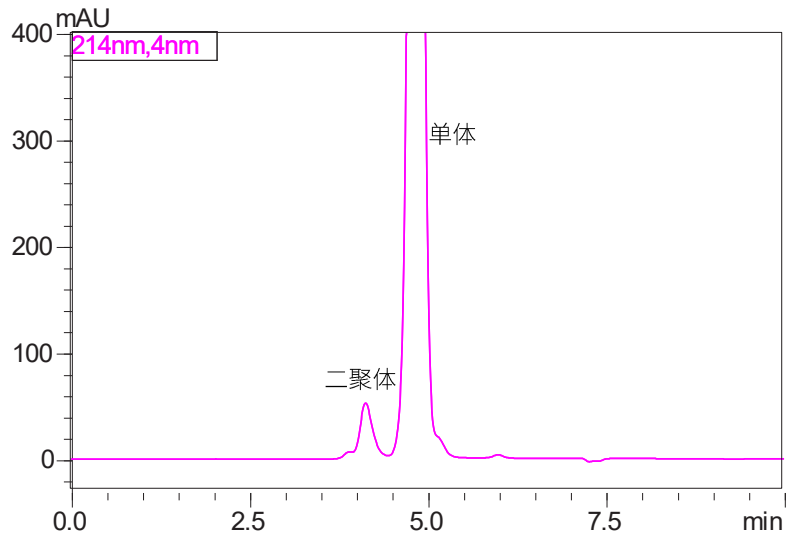


图3 分离度考察色谱图

### 2.3 重复性

将单抗工作溶液按上述分析条件进行重复测定 6 次，进行重复性考察。

从图 4 中可以看出二聚体与单体的分离度良好，在 7min 之内即可快速洗脱出来，表明 Shim-pack Bio 色谱柱在保证分离效果的基础上，减少分析时间，提高分析通量。从表 1 中看出，重复进样 6 次测试，二聚体和单体的保留时间和峰面积的 RSD% 均小于 0.5%，表明分析方法重复性良好、Nexera Bio 生物惰性液相色谱系统稳定可靠。

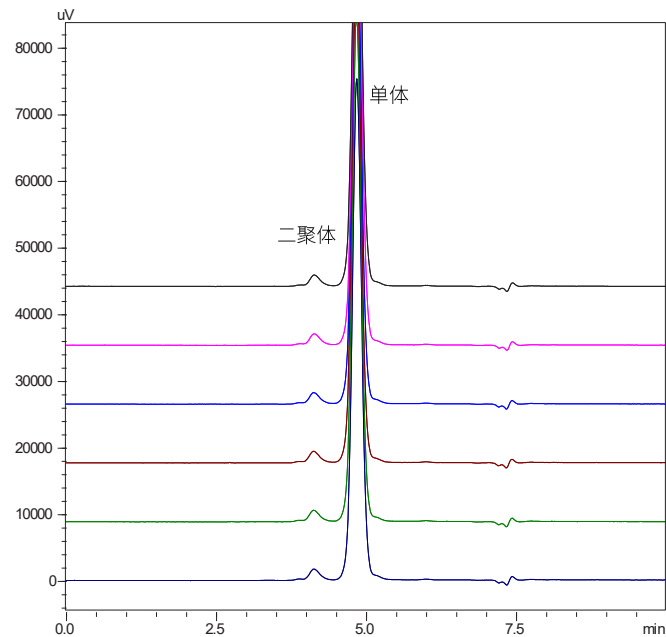


图 4 mAb 二聚体和单体的保留时间和峰面积 (n=6) 多次进样测试结果

表 1 重复性结果

	二聚体		单体	
	RT(min)	Area	RT(min)	Area
Injection-1	4.142	613,148	4.857	24,851,784
Injection-2	4.142	617,394	4.856	24,976,957
Injection-3	4.135	618,005	4.849	24,993,118
Injection-4	4.132	618,310	4.845	25,016,533
Injection-5	4.133	617,998	4.847	25,009,431
Injection-6	4.138	614,078	4.852	24,824,758
Average	4.137	616,489	4.851	24,945,430
RSD%	0.11	0.37	0.10	0.34

## ■ 结论

本实验针对 SEC 分析 mAb 进行分析测试。结果表明在确定分析条件下，二聚体和单体分离度良好，且重复性结果良好，系统稳定可靠。在 Nexera Bio 生物惰性液相色谱下，能够有效避免高盐流动相及蛋白质易吸附等对分析结果稳定性的影响，同时配合 Shim-pack Bio 专用色谱柱，可以保证快速、高效、稳定分析，从而满足单克隆抗体药物质量控制中 SEC 分析的需求。